

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
Diplomski studij medicinsko laboratorijska dijagnostika

Maja Lončarić

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE
SEROLOŠKIH TESTOVA ZA
DIJAGNOSTIKU KRVlju PRENOSIVIH
BOLESTI U POPULACIJI
DOBROVOLJNIH DAVATELJA KRVi

Diplomski rad

Osijek, 2018.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
Diplomski studij medicinsko laboratorijska dijagnostika

Maja Lončarić

ANALITIČKE KARAKTERISTIKE
SEROLOŠKIH TESTOVA ZA
DIJAGNOSTIKU KRVLJU PRENOSIVIH
BOLESTI U POPULACIJI
DOBROVOLJNIH DAVATELJA KRVI

Diplomski rad

Osijek, 2018.

Rad je ostvaren u Kliničkom bolničkom centru Osijek.

Mentor rada:

izv. prof.dr.sc. Domagoj Drenjančević, dr. med.

Rad ima 30 listova, četiri slike i 13 tablica.

Zahvala

Zahvaljujem mentoru, izv. prof. dr. sc. Domagoju Drenjančeviću, dr. med. na pomoći i savjetima tijekom školovanja i izrade radova.

Zahvaljujem izv. prof. prim. dr. sc. Marini Samardžiji, dr. med. na velikodušnoj pomoći tijekom izrade rada.

Zahvaljujem kolegicama i kolegama Kliničkog zavoda za transfuzijsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek na razumijevanju, strpljenju, pomoći i susretljivosti.

Ponajviše zahvaljujem kćeri, suprugu, roditeljima, bakama, djedovima i prijateljima na podršci, razumijevanju i strpljenju tijekom školovanja.

Sadržaj

Popis kratica	III
1. Uvod	1
1.1. Transfuzijska medicina.....	1
1.1.1. Davatelji krvi	1
1.1.2. Krvni pripravci.....	2
1.2. Uzročnici krvlju prenosivih bolesti	2
1.3. Analitičke karakteristike seroloških testova	4
1.3.1. Osjetljivost.....	4
1.3.2. Specifičnost	4
1.3.3. Dijagnostička točnost	4
1.3.4. Prediktivne vrijednosti	5
1.3.4.1. Pozitivna prediktivna vrijednost	5
1.3.4.2. Negativna prediktivna vrijednost	5
1.3.5. Tumačenje rezultata testiranja	6
1.3.6. Raspon pouzdanosti	6
2. Ciljevi	7
3. Materijali i metode	8
3.1. Materijali	8
3.2. Metode.....	8
3.2.1. Serološka dijagnostika.....	9
3.2.1.1. Enzimski imunotest (EIA)	9
3.2.1.2. Kemiluminiscentni imunotest (CLIA).....	10
3.2.1.3. Kemiluminiscentni imunotest s mikročesticama (CMIA)	11
3.3. Analitička osjetljivost.....	12
3.4. Statističke metode	13
4. Rezultati	14
4.1. Pozitivni i negativni rezultati te ukupan broj testiranja testovima pojedinog proizvođača	14
4.2. Osjetljivost.....	16
4.3. Specifičnost	16
4.4. Dijagnostička točnost.....	19
4.5. Prediktivna vrijednost	20
4.5.1. Pozitivna prediktivna vrijednost	20

4.5.2. Negativna prediktivna vrijednost	20
5. Rasprava	21
6. Zaključci.....	24
7. Sažetak	25
8. Summary	26
9. Literatura.....	27
10. Životopis	30

Popis kratica

Ag – antigen

anti-HCV – hepatitis C protutijelo

DDK – dobrovoljni davatelji krvi

DT – dijagnostička točnost

EIA – enzimski imunotest (engl. *Enzyme Immunoassay*)

CLIA – kemiluminiscentni imunotest (engl. *Chemiluminescence Immunoassay*)

CMIA – kemiluminiscentni imunotest s mikročesticama (engl. *Chemiluminescence Microparticle Immunoassay*)

FN – lažno negativni (engl. *False Negative*)

FP – lažno pozitivni (engl. *False Positive*)

HBSAg – hepatitis B antigen

HIV – virus humane imunodeficijencije (engl. *Human immunodeficiency virus*)

HZTM – Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu

KBC – Klinički bolnički centar

KZTM – Klinički zavod za transfuzijsku medicinu

LoD – granica detekcije (engl. *Limit of Detection*)

NAT – tehnika umnažanja nukleinskih kiselina (engl. *Nucleic Acid Amplification Testing*)

OD – optička gustoća (engl. *Optical Density*)

PV – prediktivna vrijednost

NPV – negativna prediktivna vrijednost

PPV – pozitivna prediktivna vrijednost

RLU – relativne svjetlosne jedinice (engl. *Relative Light Units*)

S/CO – omjer signala i *cut-offa* (engl. *signal-to-cut-off ratio*)

TN – stvarno negativni (engl. *True Negative*)

TP – stvarno pozitivni (engl. *True Positive*)

1. Uvod

1.1. Transfuzijska medicina

Transfuzijska medicina je grana medicine koja se bavi proizvodnjom krvnih pripravaka od ljudske krvi, kao i liječenjem bolesnika lijekovima proizvedenima od ljudske krvi. Obuhvaća postupke u proizvodnji krvnih pripravaka, laboratorijskom testiranju i bolesnikovu liječenju od davateljeve do bolesnikove vene. Za razliku od drugih medicinskih struka gdje je središnji interes bolesnik, u transfuzijskoj medicini jednako su značajni bolesnik i davatelj krvi (1).

Razvoj transfuzijske medicine započinje u 17. st. kada je William Harvey na temelju detaljnih istraživanja uspješno proveo eksperimentalne transfuzije krvi među životinjama. No, ta istraživanja nisu bila dovoljna za transfuziju među ljudima pa su često završavale kobno. Temelje suvremenoj transfuziji krvi obilježili su Karl Landsteiner, Alex Wiener, Philip Levine i R.E. Stetson u 20. st. otkrićem sustava Rhesus krvnih grupa. Istodobno se razvila i metoda za razdvajanje krvi na krvnu plazmu i crvene krvne stanice, što je potpomoglo trajnijem pohranjivanju i razvrstavanju krvi, odnosno uspješnijoj transfuziji. Razvoj transfuzijske medicine u Hrvatskoj nije znatno zaostajao za razvojem u svijetu (1).

1.1.1. Davatelji krvi

U početku transfuzije dobrovoljni davatelji krvi (DDK) bili su bolesnikovi članovi obitelji. No, zbog različitih bolesnikovih potreba i krvnih grupa davalaštvo se s početnog obiteljskog kruga proširilo na sve društvene skupine te je poprimilo humanitarni karakter i organizirana davanja krvi koja se danas temelje na humanističkim načelima dobrovoljnosti, besplatnosti, anonimnosti i solidarnosti (1).

Davatelji krvi mogu biti sve zdrave osobe za koje je doktor medicine pregledom utvrdio da mogu dati krv ili krvni sastojak bez opasnosti za svoje zdravlje, a transfuzija krvnih pripravaka priređenih iz njegove krvi ili krvnog sastojka neće ugroziti zdravlje primatelja. Prije darivanja krvi DDK ispunjava upitnik koji se sastoji od pitanja na temelju kojih liječnik pri pregledu donosi zaključak može li se njegova krv upotrijebiti za liječenje bolesnika. Sve informacije dobivene od DDK liječnička su tajna. Osnovni kriteriji odabira davatelja krvi su:

1. dob ispitanika: između 18 i 65 godina
2. tjelesna težina: iznad 55 kg ili proporcionalna visini

3. tjelesna temperatura: do 37 °C
4. krvni tlak: sistolični 100 do 180 mm Hg, dijastolični 60 do 110 mm Hg
5. puls: 50 do 100 otkucaja u minuti
6. hemoglobin: muškarci 135 g/L, žene 125 g/L
7. pregled i odluka liječnika (2).

1.1.2. Krvni pripravci

Krvni pripravci su lijekovi biološkog podrijetla. Proizvode se jednostavnim fizikalnim postupcima od ljudske krvi u ustanovama za transfuzijsku djelatnost. Pripadaju posebnoj skupini lijekova. Učinkovitost i sigurnost ove skupine lijekova u transfuzijskom liječenju ovisi o značajkama davateljeve krvi, tj. sirovini od koje se proizvode, te o postupcima u proizvodnji, laboratorijskom testiranju i transfuzijskom liječenju. Pripravci su eritrocitni, trombocitni i granulocitni te pripravci plazme i krioprecipitat (1).

1.2. Uzročnici krvlju prenosivih bolesti

Jedan od rizika transfuzijskog liječenja je prijenos zaraznih bolesti. Zarazne bolesti prenosive lijekovima od krvi mogu biti uzrokovane virusima, bakterijama, parazitima i prionima (tablica 1). Samo su neki uzročnici veliki javnozdravstveni problem, dok je većina sporadično opasna. Sve uzročnike koji se mogu prenijeti krvlju nije moguće testirati i zato se testiraju oni koji su propisani zakonima, ovisno o prevalenciji, epidemiološkoj situaciji, endemskim područjima i socijalno-ekonomskom statusu zemlje.

Tablica 1. Uzročnici zaraznih bolesti prenosivih krvlju

Bakterije	<i>Treponema pallidum</i> <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Klebsiella</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> spp.	<i>Enterobacter</i> spp. <i>Escherichia coli</i>
Virusi	Hepatitis A, B, C HIV 1/ 2 Humani T-limfotropni virus (HTLV) 1/ 2	Citomegalovirus (CMV) Epstein Barr virus (EBV) <i>Parvo virus</i> B-19	<i>West Nile virus</i> Humani herpes virus (HHV)
Paraziti	<i>Plasmodium malariae</i> <i>Babesia</i>	<i>Toxoplasma gondii</i> <i>Microfilaria</i>	<i>Leishmania</i> <i>Trypanosoma cruzi</i>
Prioni	Uzročnici Creutzfeldt Jakobove bolesti i njihove varijante		

Testiranje krvi na krvlju prenosive bolesti regulirano je zakonskim aktima: Zakonom o krvi i krvni pripravcima (NN79/06 i 124/11), Pravilnikom o osiguranju kvalitete krvi i krvnih pripravaka u zdravstvenim ustanovama (NN80/07 i NN18/09), Pravilnikom o sustavu sljedivosti krvnih pripravaka i praćenju ozbiljnih štetnih događaja i ozbiljnih štetnih reakcija (NN63/07), Zakonom o održivom gospodarenju otpadom (NN94/13) (3, 4) i Odlukom Ministra zdravlja iz 2012. godine kojom se Hrvatski zavod za transfuzijsku medicinu (HZTM) obvezuje na uvođenje ID-NAT testiranja svih davatelja krvi Republike Hrvatske (provedeno s 1. ožujka 2013. godine) u svrhu skraćivanja dijagnostičkog prozora (engl. *window period*). Dijagnostički prozor je razdoblje u kojem je krv zarazna, ali ne postoji mogućnost dokazivanja antigena i/ili protutijela u krvi zaražene osobe (tablica 2).

Tablica 2. Skraćenje dijagnostičkog prozora (u danima) testiranjem genoma virusa ID-NAT-om

Virus	EIA antigen	EIA protutijelo	NAT
hepatitis B (HBsAg)	59	-	34
hepatitis c (anti-HCV)	-	56	9
HIV	16	22	7-9

HZTM donosi algoritme potvrdnog testiranja pozitivnih i nejasnih rezultata ID-NAT i obaveznih seroloških testova temeljem kojih se provodi evaluacija doza i davatelja krvi u transfuzijskoj djelatnosti Republike Hrvatske. U Republici Hrvatskoj obvezno je testiranje DDK na:

1. hepatitis B (HBsAg),
2. hepatitis C (anti-HCV),
3. HIV 1 / 2 i
4. sifilis (anti-TP). (2)

Laboratorijsko testiranje krvi provodi se testovima pretraživanja visoke osjetljivosti (engl. *screening*), rutinski najčešće enzimsko imunološkim EIA i CLIA/CMIA testovima, certifikanima za *in vitro* dijagnostiku.

1.3. Analitičke karakteristike seroloških testova

Pod analitičkim karakteristikama seroloških testova podrazumijevamo osjetljivost, specifičnost te prediktivnu vrijednost testa koje su ujedno i mjere dijagnostičke točnosti.

1.3.1. Osjetljivost

Osjetljivost je sposobnost dijagnostičke pretrage da osobe s određenom bolešću razvrsta kao pozitivne (iznad ili ispod točno određene granične vrijednosti; engl. *cut-off*). Računa se kao broj stvarno pozitivnih (TP, engl. *true positives*) podijeljen s ukupnim brojem bolesnika s oboljenjem (stvarno pozitivni plus lažno negativni [FN, engl. *false negatives*]) (5).

$$\text{osjetljivost} = \frac{\text{stvarno pozitivni (TP)}}{\text{stvarno pozitivni (TP)} + \text{lažno negativni (FN)}}$$

1.3.2. Specifičnost

Specifičnost je sposobnost dijagnostičke pretrage da razvrsta osobe bez oboljenja kao negativne (tj. ispod ili iznad granične vrijednosti). Dobiva se dijeljenjem stvarno negativnih (TN, engl. *true negatives*) s ukupnim brojem bolesnika bez oboljenja (lažno pozitivni [FP, engl. *false positives*] plus stvarno negativni) (5).

$$\text{specifičnost} = \frac{\text{stvarno negativni (TN)}}{\text{lažno pozitivni (FP)} + \text{stvarno negativni (TN)}}$$

1.3.3. Dijagnostička točnost

Točnost je vjerojatnost da će pojedinac biti ispravno razvrstan temeljem neke pretrage. To je zbroj stvarno pozitivnih (TP) i stvarno negativnih (TN) podijeljen s ukupnim brojem ispitanih osoba. Predstavlja odmjereni prosjek osjetljivosti i specifičnosti (5).

$$\begin{aligned} &\text{dijagnostička točnost} \\ &= \frac{\text{stvarno pozitivni (TP)} + \text{stvarno negativni (TN)}}{\text{stvarno pozitivni (TP)} + \text{lažno negativni (FN)} + \text{stvarno negativni (TN)} + \text{lažno pozitivni (FP)}} \end{aligned}$$

1.3.4. Prediktivna vrijednost

U svrhu određivanja učinkovitosti testiranja koristi se prediktivna vrijednost testa (PV) koja može biti pozitivna (PPV) i negativna (NPV).

1.3.4.1. Pozitivna prediktivna vrijednost

Pozitivna prediktivna vrijednost (PPV) otkriva koliki je postotak bolesti osoba s pozitivnim nalazom (broj stvarno pozitivnih nalaza [TP] /broj svih pozitivnih nalaza [TP+FP]) (5).

$$\text{pozitivna prediktivna vrijednost} = \frac{\text{stvarno pozitivni (TP)}}{\text{svi pozitivni (stvarno pozitivni [TP] + lažno pozitivni [FP])}}$$

1.3.4.2. Negativna prediktivna vrijednost

Negativna prediktivna vrijednost (NPV) otkriva koliki je postotak osoba bez bolesti i s negativnim rezultatom (broj stvarno negativnih nalaza [TN] /broj svih negativnih nalaza [TN+FN]) (5).

$$\text{negativna prediktivna vrijednost} = \frac{\text{stvarno negativni (TN)}}{\text{svi negativni (stvarno negativni [TN] + lažno negativni [FN])}}$$

U tablici 3. prikazan je sažetak računanja osjetljivosti, specifičnosti i prediktivnih vrijednosti.

Tablica 3. Izračun osjetljivosti, specifičnosti te prediktivnih vrijednosti

	Bolesni	Zdravi	
Test pozitivan	stvarno pozitivni (TP)	lažno pozitivni (FP)	pozitivna prediktivna vrijednost TP/ (TP+FP)
Test negativan	lažno negativni (FN)	stvarno negativni (TN)	negativna prediktivna vrijednost TN/ (TN+FN)
	osjetljivost TP/ (TP+FN)	specifičnost TN/ (TN+FP)	

1.3.5. Tumačenje rezultata testiranja

Da bismo shvatili analitičke karakteristike testova, potrebno je objasniti tumačenje rezultata dobivenih testiranjem uzoraka krvi DDK. Kao što je spomenuto, postoje stvarno i lažno pozitivni, kao i stvarno i lažno negativni. Stvarno pozitivni rezultati su oni koji su pozitivni probirnim (engl. *screening*) testom, potvrdnim serološkim testovima (engl. *confirmatory*) kao i ID-NAT testom. Lažno pozitivni su oni koji su pozitivni samo probirnim testom. Stvarno negativni su oni koji su negativni i probirnim i ID-NAT testom, a lažno negativni su oni koji su negativni probirnim testom, a pozitivni potvrdnim serološkim testovima i ID-NAT testom. U daljnjem tekstu slijedi objašnjenje.

Probirno testiranje odnosi se na serološko testiranje u KZTM KBC Osijek. Rutinski se uz uzorke za serološku obradu DDK i probirno testiranje uzimaju i uzorci za molekularno testiranje. Molekularno testiranje odnosi se na ID-NAT testiranje (engl. *Nucleic Acid Amplification Testing*; NAT) u koje pripada metoda amplifikacije potaknute transkripcijom ili TMA testiranje (engl. *Transcription Mediated Amplification*) koje se vrši *Procleix Ultrio Plus* testom na *Procleix Tigris System* automatiziranom sustavu. KZTM KBC Osijek svakodnevno šalje uzorke krvi DDK za ID-NAT testiranje u HZTM u Zagreb koji obavlja molekularna testiranja. HZTM je jedina ustanova u Republici Hrvatskoj koja provodi ovaj test i ovlaštena je za sve donacije krvi u Republici Hrvatskoj kao i za potvrdno serološko testiranje. Transfuzijske ustanove Republike Hrvatske umrežene su preko *e-Delphyna* i rezultati se nakon svake obrade šalju kroz ovaj program.

1.3.6. Raspon pouzdanosti

Raspon pouzdanosti je objektivna procjena (ne)preciznosti i veličine uzorka nekog istraživanja. Na raspon pouzdanosti možemo gledati i kao na mjerilo kvalitete uzorka i istraživanja. Tradicionalno se u literaturi najčešće koristi 95 %-tni raspon pouzdanosti. Istraživanja provedena na velikom uzorku će dati vrlo uski raspon pouzdanosti koji ukazuje na veliku preciznost procjene, s visokom razinom pouzdanosti (6).

2. Ciljevi

Ciljevi ovog rada su:

1. ispitivanje reaktivnosti svih korištenih testova s obzirom na rezultate ponovljenih i potvrdnih testiranja,
2. ispitivanje osjetljivosti i specifičnosti testova (dijagnostička točnost),
3. ispitivanje dijagnostičke osobitosti testova, tj. pozitivne i negativne prediktivne vrijednosti u realnom kliničkom okruženju,
4. uspoređivanje analitičkih karakteristika dijagnostičkih testova prema testiranom serološkom biljevu.

3. Materijali i metode

3.1. Materijali

Instrument istraživanja su rezultati serološkog testiranja krvi DDK rutinski testiranih na Odjelu za serološku i imunohematološku dijagnostiku DDK KZTM Kliničkog bolničkog centra Osijek tijekom 2017. godine. Ispitanici su pristupali darivanju krvi na području Osječko-baranjske, Vukovarsko-srijemske, Brodsko-posavske i Virovitičko-podravske županije. U navedenom razdoblju prikupljeno je 30 997 donacija. Uzorci krvi su tijekom zaprimanja u laboratorij dobili jedinstveni barkod (engl. *barcode*) čime je identitet svakog pojedinog davatelja zaštićen. Rezultatima provedenih analiza krvi, dobivenih serološkim i molekularnim testiranjima, pristupano je kroz nacionalni informatički program *e-Delphyn* te *SredIn2* validacijski program.

E-Delphyn je WEB aplikacija razvijena u španjolskoj tvrtki *Hemasoft*. U suradnji s proizvođačem program je prilagođen zakonodavnoj transfuzijskoj praksi u Republici Hrvatskoj, zahtjevima Direktive Europske Unije i preporukama struke. Program objedinjuje sve postupke transfuzijske službe, od promidžbe i uzimanja krvi preko proizvodnje, laboratorijskog testiranja, skladištenja i distribucije krvnog pripravka pa do izdavanja krvnog pripravka pacijentu i potvrde transfuzije. Program putem VPN podatkovne mreže radi u realnom vremenu paralelno u velikim i malim centrima i mobilnim jedinicama, jednostavan je za uporabu, ima intuitivno i prijateljsko sučelje te više razina pristupa kontroliranih lozinkama. Sljedivost pruža izravan pristup podacima od davatelja do pacijenta. Internetski se integrira s drugim aplikacijama i laboratorijskom opremom. Sve se radnje korisnika bilježe i na taj je način omogućeno potpuno praćenje svih događaja u transfuzijskom lancu (7).

SredIn2 je validacijski program koji je implementiran u transfuzijsku službu 2014. godine. Služi za prijenos gotovih rezultata između instrumenata i *e-Delphyn* programa.

3.2. Metode

Laboratorijsko testiranje provodi se testovima pretraživanja visoke osjetljivosti (engl. *screening*), rutinski najčešće enzimsko imunološkim EIA i CLIA testovima, certificiranima za *in vitro* dijagnostiku.

3.2.1. Serološka dijagnostika

Serološka dijagnostika u KZTM Kliničkog bolničkog centra odnosi se na EIA i CLIA/CMIA testove. Obavljena je na automatiziranim sustavima:

- | | | |
|---------------------------------|---|-----------|
| 1. Freedom EOlyzer (DiaSorin), | } | EIA |
| 2. Evolis (BioRad), | | |
| 3. Vitros 3600 (Ortho) i | } | CLIA/CMIA |
| 4. Architect i2000 SR (Abbott). | | |

3.2.1.1. Enzimski imunoesej test (EIA)

Kod EIA testova reakcije se odvijaju u mikrotitarskim pločama s 96 reakcijskih jažica koje imaju pozitivnu i negativnu kontrolu prema protokolu proizvođača. Jažice su obložene antigenom i/ili protutijelom.

U prvom koraku reakcije uzorci se inkubiraju u jažicama. U slučaju pozitivnih uzoraka, specifični antigeni i/ili protutijela vezat će se na antigene i/ili protutijela čvrste faze. Nevezane komponente odstranjuju se ispiranjem. Za detekciju vezanih komponenti provodi se druga inkubacija uporabom enzimskog konjugata, peroksidaze, koji ima sposobnost obojenja reakcije. Završni korak ispiranja uklanja nevezane konjugate. Tijekom završne faze konjugirani enzim katalizira hidrolizu dodanog supstrata u obojeni produkt čiji se intenzitet mjeri na 450 i 650 nm pomoću optičkog čitača u instrumentu. Za svaki testirani uzorak detektiraju se dva signala u jažici mikrotitarske ploče. Prvo je očitavanje reakcijske smjese i jažice prije dodavanja supstrata. Drugo je očitavanje nakon inkubacije supstrata s enzimom. Prvo očitavanje oduzima se od drugog kako bi se dobila relativna vrijednost rezultata testa. Vrijednost testa (OD - optička gustoća; engl. *Optical Density*) uspoređuje se s graničnim vrijednostima (*cut-off*) izračunatima prema protokolu proizvođača, a zatim se interpretira krajnji rezultat. Sve korake reakcije automatski kontrolira softver instrumenta.

Interpretacija rezultata temelji se na vrijednosti testa: $OD < cut-off - 10 \% < cut-off$ (8).

Kod BioRad testova također se računa i omjer (S/CO; engl. *signal-to-cut-off ratio*). Računa se tako da se apsorbanca uzorka dijeli s graničnim vrijednostima te ako je rezultat <1 , smatra se negativnim. Međutim, postoji „siva zona“ (engl. *Grey Zone*) koja navodi da se rezultati u omjeru između vrijednosti 0,9 i 1 trebaju retestirati u duplikatu. Siviu zonu, kao i *cut-off* vrijednost,

automatski izračunava softver (8, 9, 10, 11).

3.2.1.2. Kemiluminiscentni imunotest (CLIA)

Vitros 3600 Ortho testovi temelje se na CLIA tehnologiji. Testovi su imunokemijski koji služe za kvalitativno dokazivanje antigena i/ili protutijela u humanom serumu ili plazmi.

Kad se molekula pobuđena kemijskom reakcijom vraća u osnovno energetska stanje, ona će emitirati fotone. Takva produkcija zračenja naziva se kemiluminiscencijom. CLIA test je varijacija EIA testa. Čvrste faze kod EIA testa su antigen i/ili protutijelo kojima su obložene jažice na koje se vežu traženi analiti. U CLIA testu završna reakcija koristi obilježeni vezani konjugat za produkciju kemiluminiscentnog signala. Na automatiziranom sustavu Vitros koji koristi Ortho testove, sva četiri testiranja koriste imunometrijsku tehniku, što znači da je obilježen reagens. Također, tijekom završne faze u sva četiri testa kompleks antigen-protutijelo se veže pomoću streptavidina koji je pročišćeni protein bakterije *Streptomyces avidinii*. Nevezani materijal se ispiri, što znači da neće doći do reakcije (12, 13, 14, 15).

Vrijednosti dobivenih rezultata dijele se s graničnim vrijednostima (*cut-off*) izračunatima prema protokolu proizvođača i interpretira se krajnji rezultat u obliku S/CO. Sve korake reakcije automatski kontrolira softver instrumenta. Interpretacija rezultata Ortho testova izvedenih na Vitros 3600 prikazana je u tablici 4.

Tablica 4. Interpretacija rezultata Ortho testova izvedenih na Vitros 3600

HBsAg, anti-HCV i HIV Combo test		Sifilis test	
Rezultat (S/CO)	Interpretacija	Rezultat (S/CO)	Interpretacija
< 0,90	negativan	< 0,80	negativan
≥ 0,90 do < 1,00	granična vrijednost	≥ 0,80 do < 1,20	granična vrijednost
≥ 1,00	pozitivan	≥ 1,20	pozitivan

3.2.1.3. Kemiluminiscentni imunotest s mikročesticama (CMIA)

Abbott Architect automatizirani sustav temelji se na CMIA tehnologiji. CMIA test je također varijacija EIA testa. To su imunokemijski testovi koji služe za kvalitativno dokazivanje antigena i/ili protutijela u humanom serumu ili plazmi.

CMIA tehnologija koristi paramagnetske mikročestice za učvršćivanje protutijela. U kemiluminiscentnoj tehnologiji mogu se koristiti razni obilježivači. Abbott Architect koristi akridin koji proizvodi svjetlo kada se kombinira s aktivirajući reagensom (engl. *trigger*). Nakon ispiranja puferom za ispiranje u reakcijsku se smjesu dodaju predaktivacijska (engl. *Pre-trigger*) i aktivacijska (engl. *Trigger*) otopina. To aktivira kemiluminiscentnu reakciju koja se mjeri i izražava relativnim svjetlosnim jedinicama (engl. *Relative Light Units*; RLU). Količina traženog analita u uzorku proporcionalna je vrijednosti RLU izmjerenoj Architect iSystem optikom. Sva su četiri testa dvostupanjska (osim HBsAg testa koji je jednostupanjski) imunokemijska testa za kvalitativno dokazivanje antigena i/ili protutijela u humanom serumu ili plazmi (16, 17, 18, 19).

Prisutnost ili odsutnost antigena i/ili protutijela u uzorku određuje se usporedbom kemiluminiscentnog signala u reakciji s graničnom vrijednošću (engl. *cut-off*) koja je određena kalibracijom testova te se tako interpretira krajnji rezultat u obliku S/CO. Sve korake reakcije automatski kontrolira softver instrumenta. Interpretacija rezultata Abbott testova izvedenih na Architect i2000 SR prikazana je u tablici 5.

Tablica 5. Interpretacija rezultata Abbott testova izvedenih na Architect i2000 SR

Inicijalni rezultat (S/CO)	Interpretacija instrumenta
< 1,00	negativan
≥ 1,00	pozitivan

Rezultati s vrijednostima nižim od granične vrijednosti ukazuju da se u uzorku ne nalaze traženi antigeni i/ili protutijela koja se mogu detektirati. Inicijalno pozitivni uzorci kojima su rezultati veći ili jednaki graničnoj vrijednosti retestiraju se u duplikatu. Ponovljeno reaktivni ili

nejasni rezultati dokazuju se testovima visoke specifičnosti (potvrđni testovi) u Referentnom centru za davatelje krvi HZTM u Zagrebu. Svrha je potvrdnog testiranja nadzor nad zaraženima i sprječavanje širenja infekcije, poduzimanje mjera kojima se utječe na sigurnost krvi te pravovremeno liječenje.

Svaki uzorak koji u probirnom serološkom i NAT testu pokaže negativan rezultat smatra se sukladnim. Svaki uzorak koji u serološkom i/ili NAT testu pokaže inicijalno reaktivan rezultat, a potvrđno testiranje je negativno, smatra se potencijalno zaraznim i nesukladnim, dok se ne provede ponavljanje testiranja istim testom u duplikatu. Ako je rezultat ponavljanja u duplikatu istim testom negativan/negativan, doza krvi smatra se sukladnom. Ako je rezultat ponavljanja istim testom pozitivan/pozitivan, negativan/pozitivan ili pozitivan/negativan, pripravci priređeni iz te donacije moraju se uništiti kako je to propisano Zakonom o održivom gospodarenju otpadom (3) i Pravilnikom o vrstama otpada (4).

3.3. Analitička osjetljivost

Sposobnost detekcije vrlo niskih koncentracija određene tvari u biološkom uzorku je analitička osjetljivost. Često se naziva i granicom detekcije (engl. *Limit of Detection*; LoD). LoD je stvarna koncentracija analita u uzorku koji se može dosljedno detektirati u ≥ 95 % vremena. Analitička osjetljivost testova izvođenih u KZTM KBC Osijek iskazana je u deklaraciji proizvođača samo za određene testove, a to su: HBsAg BioRad je 0,060 ng/mL (8), DiaSorin je 0,02 IU/mL (20), Ortho 0,066 IU/mL (12) te Abbott 0,021 IU/mL (16). Za anti-HCV test je dostupan samo podatak Abbottovog testa, a to je < 50 pg/mL (17). ZA HIV BioRad vrijednost je < 25 pg/mL (10), DiaSorin 28 pg/mL (21) te za Ortho 13,1 pg/mL (14). Za sifilis Biorad test vrijednost je 0,11 mIU/mL (11).

3.4. Statističke metode

Statistička značajnost postavljena je na $\alpha = 0,05$. Podatci su statistički analizirani upotrebom informatičkog programa MedCalc i Microsoft Office Excel tabličnog kalkulatora. Za analitičke testove će se izračunati osjetljivost, specifičnost, dijagnostička točnost te pozitivna i negativna prediktivna vrijednost.

4. Rezultati

4.1. Pozitivni i negativni rezultati te ukupan broj testiranja testovima pojedinih proizvođača

U sljedećim tablicama nalaze se rezultati HBsAg, anti-HCV, HIV i anti-TP testiranja EIA BioRad (tablica 6), EIA DiaSorin (tablica 7), CLIA Ortho (tablica 8) te CMIA Abbott testovima (tablica 9) kao i ukupan broj testiranja testovima navedenih proizvođača.

Tablica 6. Izvršene pretrage i rezultati EIA BioRad testova

	Inicijalno reaktivni (IR)*	Stvarno pozitivni (SP)	Lažno pozitivni (LP)	Stvarno negativni (SN)	Lažno negativni (LN)	Ukupno
HBsAg	21 (0,22 %)	3 (0,03 %)	10 (0,1 %)	9752 (99,90 %)	0	9765
anti-HCV	8 (0,07 %)	0	6 (0,05 %)	11351 (99,95 %)	0	11357
HIV	9 (0,09 %)	0	1 (0,01 %)	10099 (99,99 %)	0	10100
anti-TP	5 (0,05 %)	0	2 (0,02 %)	9785 (99,98 %)	0	9787
						41009

*inicijalno reaktivni uzorci koji su konačno negativni u serološkom probiru

Tablica 7. Izvršene pretrage i rezultati EIA DiaSorin testova

	Inicijalno reaktivni (IR)*	Stvarno pozitivni (SP)	Lažno pozitivni (LP)	Stvarno negativni (SN)	Lažno negativni (LN)	Ukupno
HBsAg	3 (0,02 %)	0	2 (0,01 %)	15682 (99,99 %)	0	15684
anti-HCV	27 (0,22 %)	0	17 (0,14 %)	12297 (99,86 %)	0	12314
HIV	10 (0,07 %)	0	6 (0,04 %)	15369 (99,96 %)	0	15375
anti-TP	3 (0,02 %)	0	3 (0,02 %)	15002 (99,98 %)	0	15005
						58 387

*inicijalno reaktivni uzorci koji su konačno negativni u serološkom probiru

Tablica 8. Izvršene pretrage i rezultati CLIA Ortho testova

	Inicijalno reaktivni (IR)*	Stvarno pozitivni (SP)	Lažno pozitivni (LP)	Stvarno negativni (SN)	Lažno negativni (LN)	Ukupno
HBsAg	4 (0,08 %)	0	4 (0,08 %)	4944 (99,92 %)	0	4948
anti-HCV	4 (0,07 %)	0	4 (0,07 %)	5610 (99,93 %)	0	5614
HIV	5 (0,11 %)	0	2 (0,04 %)	4757 (99,96 %)	0	4759
anti-TP	2 (0,04 %)	0	2 (0,04 %)	5413 (99,96 %)	0	5415
						20 736

*inicijalno reaktivni uzorci koji su konačno negativni u serološkom probiru

Tablica 9. Izvršene pretrage i rezultati CMIA Abbott testova

	Inicijalno reaktivni (IR)*	Stvarno pozitivni (SP)	Lažno pozitivni (LP)	Stvarno negativni (SN)	Lažno negativni (LN)	Ukupno
HBsAg	2 (0,6 %)	0	1 (0,3 %)	335 (99,97 %)	0	336
anti-HCV	6 (0,54 %)	0	6 (0,54 %)	1108 (99,46 %)	0	1114
HIV	1 (0,24 %)	0	1 (0,24 %)	424 (99,76 %)	0	425
anti-TP	0	0	0	545 (100 %)	0	545
						2 420

*inicijalno reaktivni uzorci koji su konačno negativni u serološkom probiru

4.2. Osjetljivost

Osjetljivost je moguće izračunati samo za HBsAg BioRad test jer jedino kod tog testa postoje stvarno pozitivni rezultati. Iznosi 100 % što se podudara s navodima proizvođača (8). Kod ostalih testova nema stvarno pozitivnih i lažno negativnih rezultata tako da je osjetljivost nemoguće izračunati. Svi proizvođači deklariraju izmjerenu visoku osjetljivost u testnom uzorku (od 100 %), osim kod Abbott anti-HCV testa gdje je navedena osjetljivost od 99,10 % (17).

4.3. Specifičnost

Na slijedećim tablicama i slikama uspoređeni su rezultati specifičnosti testova dobivenih u KZTM KBC Osijek s rezultatima proizvođača kao i 95 %-tni raspon pouzdanosti koji je iz podataka dobivenih u KZTM izračunat pomoću MedCalc kalkulatora (22).

Tablica 10. Usporedba rezultata specifičnosti EIA testova dobivenih u KZTM KBC Osijek s rezultatima proizvođača (%) i raspona pouzdanosti (95 % CI)

		KZTM	EIA BioRad	KZTM	EIA DiaSorin
HBsAg	Specifičnost	99,90 %	99,94 %	99,99 %	99,97 %
	95 % CI	99,81 - 99,95 %	99,87 - 99,98 %	99,95 - 100,00 %	99,92 - 99,99 %
anti-HCV	Specifičnost	99,95 %	99,92 %	99,99 %	99,86 %
	95 % CI	99,89 - 99,98 %	99,80 - 99,98 %	99,78 - 99,92 %	99,77 - 99,94 %
HIV	Specifičnost	99,99 %	99,95 %	99,96 %	99,78 %
	95 % CI	99,94 - 100,00 %	97,85 - 99,95 %	99,92 - 99,99 %	99,67 - 99,87 %
anti-TP	Specifičnost	99,98 %	99,40 %	99,98 %	99,95 %
	95 % CI	99,93 - 100,00 %	99,93 - 100 %	99,94 - 100,00 %	99,20 - 100 %

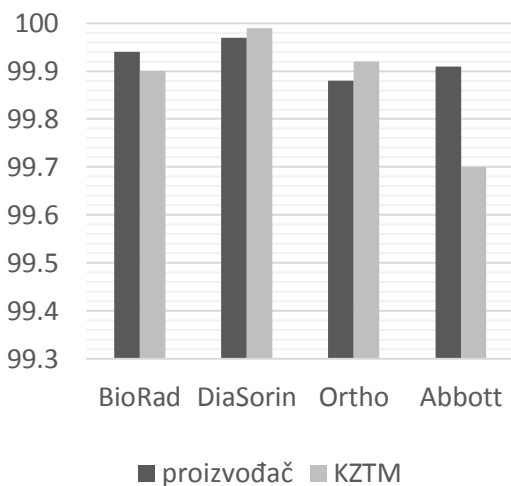
Tablica 11. Usporedba rezultata specifičnosti CLIA testova dobivenih u KZTM KBC Osijek s rezultatima proizvođača (%) i raspona pouzdanosti (95 % CI)

		KZTM	CLIA Ortho
HBsAg	Specifičnost	99,92 %	99,88 %
	95 % CI	99,79 - 99,98 %	99,74 - 99,96 %
anti-HCV	Specifičnost	99,89 %	99,76 %
	95 % CI	99,82 - 99,98 %	-*
HIV	Specifičnost	99,96 %	99,84 %
	95 % CI	99,85 - 99,99 %	97,69 - 99,93 %
anti-TP	Specifičnost	99,96 %	99,98 %
	95 % CI	99,87 - 100 %	99,90 - 100 %

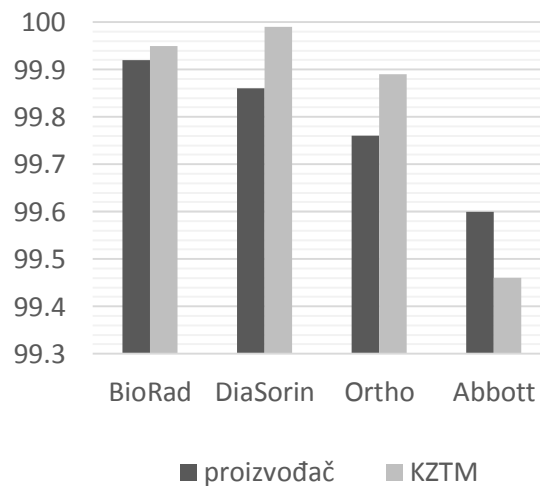
*podatak nije dostupan

Tablica 13. Usporedba rezultata specifičnosti CMIA testova dobivenih u KZTM KBC Osijek s rezultatima proizvođača (%) i raspona pouzdanosti (95 % CI)

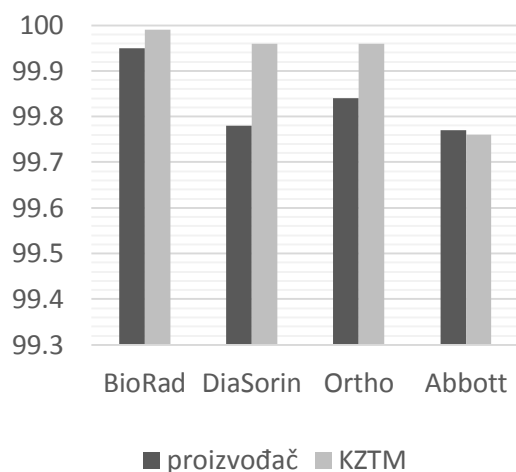
		KZTM	CMIA Abbott
HBsAg	Specifičnost	99,70 %	99,91 %
	95 % CI	98,35 - 99,99 %	99,78 - 99,97 %
anti-HCV	Specifičnost	99,46 %	99,60 %
	95 % CI	98,83 - 99,80 %	96,45 - 99,71 %
HIV	Specifičnost	99,76 %	99,77 %
	95 % CI	98,70 - 99,99 %	99,77 - 99,96 %
anti-TP	Specifičnost	100 %	99,94 %
	95 % CI	99,87 - 100 %	99,33 - 100 %



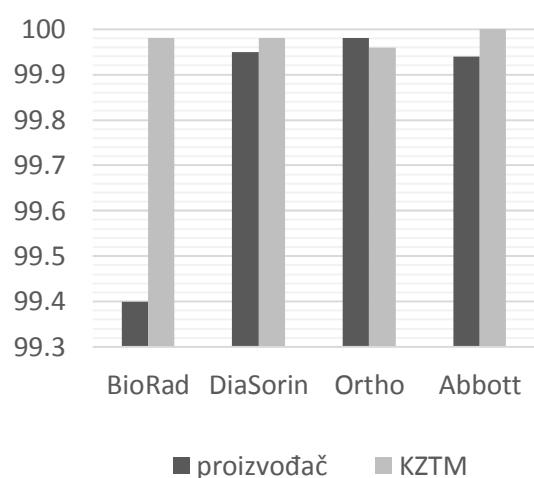
Slika 1. Usporedba rezultata specifičnosti HBsAg testova dobivenih u KZTM KBC Osijek s rezultatima proizvođača (%)



Slika 2. Usporedba rezultata specifičnosti anti-HCV testova dobivenih u KZTM KBC Osijek s rezultatima proizvođača (%)



Slika 3. Usporedba rezultata specifičnosti HIV testova dobivenih u KZTM KBC Osijek s rezultatima proizvođača (%)



Slika 4. Usporedba rezultata specifičnosti sifilis testova dobivenih u KZTM KBC Osijek s rezultatima proizvođača (%)

4.4. Dijagnostička točnost

U tablici 13. prikazani su rezultati dijagnostičke točnosti (DT) kao i 95 %-tni raspon pouzdanosti koji je iz podataka dobivenih u KZTM izračunat pomoću MedCalc kalkulatora (22).

Tablica 13. Dijagnostička točnost (DT) testova uz 95 %-tni raspon pouzdanosti

		EIA BioRad	EIA DiaSorin	CLIA Ortho	CMIA Abbott
HBsAg	DT	99,90 %	99,94 %	99,99 %	99,97 %
	95 % CI	99,81 - 99,95 %	99,87 - 99,98 %	99,95 - 100,00 %	99,92 - 99,99 %
anti-HCV	DT	99,95 %	99,92 %	99,99 %	99,86 %
	95 % CI	99,89 - 99,98 %	99,80 - 99,98 %	99,78 - 99,92 %	99,77 - 99,94 %
HIV	DT	99,99 %	99,95 %	99,96 %	99,78 %
	95 % CI	99,94 - 100,00 %	97,85 - 99,95 %	99,92 - 99,99 %	99,67 - 99,87 %
anti-TP	DT	99,98 %	99,40 %	99,98 %	99,95 %
	95 % CI	99,93 - 100,00 %	99,93 - 100 %	99,94 - 100,00 %	99,20 - 100 %

4.5. Prediktivna vrijednost

4.5.1. Pozitivna prediktivna vrijednost

Pozitivne prediktivne vrijednosti za gotovo sve testove iznose 0 %, osim kod BioRad HBsAg testa, gdje je vrijednost 23,08 %.

4.5.2. Negativna prediktivna vrijednost

Negativne prediktivne vrijednosti za sve testove iznose 100 %.

5. Rasprava

U ispitivanom razdoblju od 1. siječnja do 1. prosinca 2017. godine ispitano je gotovo 31 000 uzoraka. Svaka donacija rutinski je testirana prema standardnim, zakonom propisanim serološkim i molekularnim metodama. Tijekom navedenog razdoblja testirana su 122 543 testa na 30 977 uzoraka. Najviše je testova napravljeno DiaSorin testovima (58 378), zatim BioRad (41 009) pa Ortho (20 736) i najmanje Abbott testovima (2 420).

Osjetljivost je omjer broja stvarno pozitivnih podijeljen s ukupnim brojem bolesnika s oboljenjem, tj. sposobnost dijagnostičke pretrage da osobe s određenom bolešću razvrsta kao pozitivne. To znači da što je test osjetljiviji, to je veća vjerojatnost da će test biti pozitivan kad je zaraza prisutna (23). Možda najvažniji aspekt osjetljivosti je sposobnost otkrivanja infekcije u najranijoj fazi jer ta detekcija smanjuje duljinu infektivnog perioda i tako se smanjuje rizik od prijenosa infekcije (24). Bilo ju je moguće izračunati samo za jedan test, i to HBsAg BioRad jer jedino kod tog testa postoje stvarno pozitivni rezultati, dok kod drugih testova stvarno pozitivnih nema. Iznosi 100 % što se podudara s navodima proizvođača (8). U svim korištenim testovima proizvođači su koristili rezultate oko 480 pozitivnih rezultata čime KZTM KBC ne raspolaže. Svi navode da osjetljivost iznosi 100 %, osim kod Abbott anti-HCV testa gdje je osjetljivost 99,10 % (17).

Specifičnost je omjer broja stvarno negativnih podijeljen s ukupnim brojem bolesnika bez oboljenja, tj. sposobnost dijagnostičke pretrage da razvrsta osobe bez oboljenja kao negativne. Što je test specifičniji, to je veća vjerojatnost da će rezultat testa biti negativan kada zaraza nije prisutna (23). Po preporuci literature, specifičnost testa najbolje se procjenjuje kod većeg broja negativnih uzoraka, i to u populaciji DDK, što je slučaj u ovom radu (24). Proizvođači su za izračun specifičnosti koristili rezultate oko 6900 nasumičnih DDK, dok taj broj u KZTM KBC Osijek iznosi gotovo 31 000. U KZTM KBC Osijek srednja vrijednost specifičnosti je 99,88 %. BioRad testovi pokazali su najveću ukupnu specifičnost koja iznosi 99,96 %. DiaSorin testovi pokazali su nešto nižu vrijednost, 99,94 %. Zatim slijedi Ortho s 99,93 % i Abbott s 99,73% što se podudara s vrijednostima specifičnosti u brojnim testiranjima u Njemačkoj, Americi i Engleskoj (25, 26, 27, 28). Specifičnost pojedinačnih testova u ovom radu iznosi: Abbott sifilis test 100 %, BioRad HIV i DiaSorin HBsAg 99,99 %, BioRad i DiaSorin sifilis 99,98 %, Ortho HIV i sifilis te DiaSorin HIV

99,96 %, BioRad anti-HCV 99,95 %, Ortho anti-HCV 99,93 %, Ortho HBsAg 99,92 %, BioRad HBsAg 99,90 %, DiaSorin anti-HCV 99,86 %, Abbott HIV 99,76 % Abbott HBsAg s 99,70 % te najmanje specifičan Abbott anti-HCV s 99,46 %. Preosjetljiv test može ograničiti specifičnost i dovesti do relativno velikog broja lažno pozitivnih rezultata (23). Za testiranje pozitivnih rezultata postoji molekularno testiranje kojim razlikujemo lažno i stvarno pozitivne. U ovom radu od ukupno 70 (0,06 %) lažno pozitivnih, stvarno su pozitivna 3 uzorka (0,002 %). Sva su 3 uzorka pozitivna i u serološkom (BioRad) i u molekularnom testiranju te je dokazana infekcija virusom hepatitisa B. Ti su DDK trajno isključeni iz davalaštva i upućeni na daljnje liječenje. Veću specifičnost pokazali su rezultati gotovo svih testova rađenih u KZTM KBC Osijek, osim HBsAg BioRad (KZTM 99,90 %, proizvođač 99,94 %) i sifilis Ortho test (KZTM 99,96 %, proizvođač 99,98 %).

Dijagnostička točnost testova govori o ispravnom razvrstavanju rezultata testova na temelju neke pretrage (5). U ovom radu dijagnostička je točnost iznimno visoka. Prosječna vrijednost je 99,89 %. To znači da su svi testovi ispravno razvrstani gotovo 100 %. Dijagnostički najtočniji test je Abbott sifilis sa 100 %. Zatim slijede BioRad HIV i DiaSorin HBsAg s 99,99 %, BioRad i DiaSorin sifilis s 99,98 %, Ortho HIV i sifilis te DiaSorin HIV s 99,96 %, BioRad anti-HCV s 99,95 %, Ortho anti-HCV s 99,93 %, Ortho HBsAg s 99,92 %, BioRad HBsAg s 99,90 %, DiaSorin anti-HCV s 99,86 %, Abbott HIV s 99,76 %m Abbott HBsAg s 99,70 % te najmanje specifičan Abbott anti-HCV s 99,46 %.

Pozitivna prediktivna vrijednost je za gotovo sve testove 0 % te nam to govori da nema osoba s pozitivnim nalazom koje su zaista bolesne, osim u slučaju HBsAg BioRad testa (koji je biljeg hepatitisa B), čija vrijednost iznosi 23,08 % te iz toga zaključujemo da 23,08 % osoba s pozitivnim nalazom zaista ima hepatitis B. Negativna prediktivna vrijednost otkriva da 100 % negativnih rezultata osoba testiranih svim probirnim testovima u KZTM KBC Osijek zaista nema testirane bolesti (23).

U rezultatima se prikazuju gotovo identične vrijednosti specifičnosti proizvođača i vrijednosti dobivenih u Odjelu za serološku i imunohematološku dijagnostiku DDK KZTM KBC Osijek, kao i vrlo visoku dijagnostičku točnost. To znači da su testiranja visoko osjetljiva i specifična, što ispunjava današnje potrebe sigurnog transfuzijskog liječenja. Iznimno je važno da nema lažno

negativnih rezultata, što znači da nema niti jednog rezultata koji je serološkim testiranjem negativan, a molekularnim testiranjem pozitivan.

Sigurnost krvi i krvnih pripravaka omogućava niz postupaka tijekom cijelog procesa proizvodnje pripravaka za transfuzijsko liječenje. Jednu od ključnih točaka zauzima testiranje DDK na krvlju prenosive zarazne bolesti. Infekcije primatelja krvi uzročnicima zaraznih bolesti pripadaju među najteže nuspojave i štetne događaje transfuzijskog liječenja. Primjena seroloških i molekularnih testova visoke osjetljivosti, kao i specifičnosti rezultirala je izuzetno niskim rizikom zaraze virusom hepatitisa B, C, HIV-a te sifilisom, čak nižim nego što je učestalost teških nuspojava kod brojnih drugih medicinskih postupaka. Testiranje krvnih pripravaka na krvlju prenosive zarazne bolesti predstavlja jednu od važnih karika u sustavu nadzora nad ukupnom sigurnošću krvi i krvnih pripravaka. Kontinuirano osiguravanje sigurnosti krvi i krvnih pripravaka nužno je za prevenciju širenja krvlju prenosivih bolesti.

6. Zaključci

Temeljem provedenog istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Ispitana je reaktivnost svih korištenih testova u KZTM KBC Osijek te su, s obzirom na rezultate ponovljenih i potvrdnih testiranja, od ukupno 122 543 testirana testa stvarno pozitivna 3 (0,002%).
2. Osjetljivost je moguće izračunati samo za jedan test, i to HBsAg BioRad jer jedino kod tog testa postoje stvarno pozitivni rezultati, dok kod drugih testova stvarno pozitivnih nema. Iznosi 100 % što se podudara s navodima proizvođača. Najspecifičniji testovi su BioRad (99,96 %), zatim slijede DiaSorin testovi (99,94 %), Ortho (99,93 %) i kao najmanje specifični Abbott testovi (99,73 %). Dijagnostička točnost je isto gotovo 100 % te je poredak kao kod specifičnosti testova.
3. Pozitivna prediktivna vrijednost je za gotovo sve testove 0 % te nam to govori da nema osoba s pozitivnim nalazom koje su zaista bolesne, osim u slučaju HBsAg BioRad testa čija vrijednost iznosi 23,08 % te iz toga zaključujemo da 23,08 % osoba s pozitivnim nalazom zaista ima hepatitis B. Negativna prediktivna vrijednost otkriva da 100% negativnih rezultata osoba testiranih svim probirnim testovima u KZTM KBC Osijek zaista nema testirane bolesti.
4. Najveću specifičnost i dijagnostičku točnost u KZTM KBC Osijek ima sifilis test s 99,98 %, zatim HBsAg s 99,88 %, HIV - 99,92 % i najmanje specifičan je anti-HCV test s 99,80 %.

7. Sažetak

Uvod: Transfuzijska medicina je grana medicine koja se bavi proizvodnjom krvnih pripravaka od ljudske krvi, kao i liječenjem bolesnika lijekovima proizvedenima od ljudske krvi. Učinkovitost i sigurnost liječenja ovim lijekovima ovisi i o laboratorijskom testiranju na krvlju prenosive bolesti, a obuhvaća testiranje na HBsAg (hepatitis B), anti-HCV (hepatitis C), HIV 1/2 i sifilis.

Ciljevi: Ciljevi rada bili su ispitivanje reaktivnosti svih korištenih testova s obzirom na rezultate ponovljenih i potvrdnih testiranja, ispitivanje osjetljivosti i specifičnosti testova (dijagnostička točnost), ispitivanje dijagnostičke osobitosti testova, tj. pozitivne i negativne prediktivne vrijednosti u realnom kliničkom okruženju te uspoređivanje analitičkih karakteristika dijagnostičkih testova prema testiranom serološkom biljevu.

Materijali i metode: Instrument istraživanja bili su rezultati serološkog testiranja dobrovoljnih davatelja krvi (DDK) rutinski testiranih u Kliničkom zavodu za transfuzijsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek i molekularnog testiranja rutinski testiranih na Odjelu za NAT testiranje davatelja krvi Hrvatskog zavoda za transfuzijsku medicinu.

Rezultati: Od 1. siječnja do 31. prosinca 2017. godine testirano je 122 543 testa na 30 977 uzoraka. Od toga je 70 lažno pozitivnih (0,06 %), 3 su stvarno pozitivna na HBsAg (0,002 %), a lažno negativnih nema.

Zaključak: Osjetljivost testova rađenih u KZTM KBC Osijek iznosi 100 %. Najspecifičniji testovi su BioRad (99,96 %), zatim slijede DiaSorin testovi (99,94%), Ortho (99,93 %) i kao najmanje specifični Abbott testovi (99,73 %). Dijagnostička točnost je također gotovo 100 % te je poredak kao kod specifičnosti testova.

Ključne riječi: dobrovoljni davatelji krvi, analitičke karakteristike, osjetljivost, specifičnost, dijagnostička točnost, prediktivna vrijednost

8. Summary

Analitical characteristics of serological tests for diagnostic of blood transmitted diseases in voluntary blood donors

Introduction: Transfusion medicine is a part of medicine that is involved in the production of human blood-borne preparations as well as in the treatment of patients with human blood-borne medicines. The efficacy and safety of treatment with these medicines also depends on laboratory testing on blood transmitted diseases, including testing on HBsAg (hepatitis B), anti-HCV (hepatitis C), HIV 1/2 and syphilis.

Objectives: The results of the study were the reactivity of all the tests used with regard to the results of the repeated and confirmatory tests, the sensitivity and test specificity (diagnostic accuracy), the diagnostic test of the positive and negative predictive values in the real clinical environment and the analytical characteristics of the diagnostic tests according to a tested serological marker.

Material and methods: Research instrument was the results of serological testing of volunteer blood donors routinely tested at the Clinical Institute for Transfusion Medicine of the Osijek Clinical Hospital Center and the molecular testing routinely tested at the NAT Testing Unit of the Croatian Institute of Transfusion Medicine.

Results: From January 1st to December 31st 2017, 122 543 tests on 30 977 samples were tested. Out of these, 70 false positives (0.06 %), 3 are really positive on HBsAg (0.002 %), and there are no false negatives.

Conclusion: The sensitivity of the tests done in KBC Osijek is 100 %. The most specific tests were BioRad (99.96 %) followed by DiaSorin tests (99.94 %), Ortho (99.93 %) and as the least specific Abbott tests (99.73 %). Diagnostic accuracy is also almost 100 % and the order is the same as of the specificity of the tests.

Key words: voluntary blood donors, analytical characteristics, sensitivity, specificity, diagnostic accuracy, predictive value

9. Literatura

1. Grgičević D i suradnici. Transfuzijska medicina u kliničkoj praksi. Zagreb: Medicinska naklada; 2006.
2. Zakon o krvi i krvnim pripravcima (NN79/06). Dostupno na adresi: <http://www.zakon.hr/z/511/Zakon-o-krvi-i-krvnim-pripravcima>. Datum pristupa: 1.8.2018.
3. Zakon o održivom gospodarenju otpadom (NN94/13). Dostupno na adresi: http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2013_07_94_2123.html. Datum pristupa: 10.8.2018.
4. Pravilnik o vrstama otpada (NN34/95). Dostupno na adresi: http://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/1996_04_27_539.html. Datum pristupa: 10.8.2018.
5. Marc A. Raslich, Ronald J. Markert, Shahan A. Stutes. Odabir i tumačenje dijagnostičkih pretraga. *Biochemia Medica* 2007;17(2):151-61
6. Šimundić A. Raspon pouzdanosti. *Biochemia Medica* 2008;18(2):154–61
7. *e-Delphyn*: Uputa za rad sa davateljima. Hemasoft; 23.03.2013 ver.2.5.
8. BioRad Monolisa HBsAg ULTRA package insert. Dostupno na adresi: http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/hr/883661_HR.pdf. Datum pristupa: 12.8.2018.
9. BioRad Monolisa Anti-HCV PLUS Version 3 package insert. Dostupno na adresi: http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/hr/883635_HR.pdf. Datum pristupa: 12.8.2018.
10. BioRad ULTRA HIV Ag-Ab package insert. Dostupno na adresi: http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/hr/883637_2013_10_HR.pdf. Datum pristupa: 12.8.2018.
11. BioRad Syphilis Total Ab package insert. Dostupno na adresi: http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/hr/883679_HR.pdf. Datum pristupa: 12.8.2018.

12. Vitros HBsAg package insert. Dostupno na adresi:
https://wwwn.cdc.gov/nchs/data/nhanes/2011-2012/labmethods/hepb_d_g_met_hepatitis-b-surface-antigen.pdf. Datum pristupa: 12.8.2018.
13. Vitros anti-HCV package insert
14. Vitros HIV package insert. Dostupno na adresi:
<https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/BloodBloodProducts/ApprovedProducts/PremarketApprovalsPMAs/UCM588975.pdf>. Datum pristupa: 12.8.2018.
15. Vitros Syphilis package insert
16. Architect HBsAg package insert. Dostupno na adresi:
http://www.illexmedical.com/files/PDF/AntiHBs_ARC.pdf. Datum pristupa: 12.8.2018.
17. Architect anti-HCV package insert. Dostupno na adresi:
https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf5/P050042c.pdf. Datum pristupa: 12.8.2018.
18. Architect HIV Ag/Ab Combo package insert. Dostupno na adresi:
<https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/.../UCM216309.p>. Datum pristupa: 12.8.2018.
19. Architect Syphilis TP package insert. Dostupno na adresi:
http://www.illexmedical.com/files/PDF/Syphilis_ARC.pdf. Datum pristupa: 12.8.2018.
20. DiaSorin HBsAg package insert. Dostupno na adresi: http://www.bio-group.in/Products/Diasorin/IFUk_en_9F80-05_01-Murex_HBsAg.pdf. Datum pristupa: 12.8.2018.
21. DiaSorin HIV Ag/Ab Combination package insert. Dostupno na adresi:
www.fda.gov.tw/MLMS/ShowFile.aspx?LicId=06010740&Seq=004&Type=9. Datum pristupa: 12.8.2018.
22. MedCalc kalkulator. Dostupno na adresi:
https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php. Datum pristupa: 20.8.2018.

23. Lalkhenm A. G, McCluskey A. Clinical tests: sensitivity and specificity. Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain; 2008; 8:6,221-223. Dostupno na adresi: <https://doi.org/10.1093/bjaceaccp/mkn041>. Datum pristupa: 15.8.2018.
24. Christopher D. Hillyer, Leslie E. Silberstein, Paul M. Ness, Kenneth C. Anderson, John D. Roback. Blood Banking and Transfusion Medicine E-Book: Basic Principles and Practice. Dostupno na adresi: <https://books.google.hr/books?id=8iEPDQAAQBAJ&dq=performance+characteristics+of+eia+test+in+transfusion&hl=hr>. Datum pristupa: 20.8.2018.
25. Scheiblaue H. El-Nageh M. Diaz S. Nick S. Zeichhardt H. Grunert H.P. Prince A. Performance evaluation of 70 hepatitis B virus (HBV) surface antigen (HBsAg) assays from around the world by a geographically diverse panel. Journal compilation 2009 International Society of Blood Transfusion. Vox Sanguinis, 2010. 98, 403-414
26. Weiming T. Chen W. Amini A. Boeras D. Falconer J. Kelly H. Peeling R. Varsaneux O. Tucker J. D. Easterbrook P. Diagnostic accuracy of tests to detect Hepatitis C antibody: a meta-analysis and review of the literature. BMC Infectious Diseases 2017. 17, 40-57
27. Mitchell E. O. Stewart G. Bajzik O. Ferret M. Bentsen C. Shriver M. K. Performance comparison of the 4th generation Bio-Rad Laboratories GS HIV Combo Ag/Ab EIA on the EVOLIS automated system versus Abbott ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo, Ortho Anti-HIV 1 + 2 EIA on Vitros ECi and Siemens HIV-1/O/2 enhanced on Advia Centaur. Journal of Clinical Virology. Volume 58, Supplement 1. December 2013. 58, 79-84
28. Aktas G , Young H, Moyes A, Badur S. Evaluation of the serodia Treponema pallidum particle agglutination, the Murex Syphilis ICE and the Enzywell TP tests for serodiagnosis of syphilis. Int J STD AIDS. 2005 Apr;16(4):294-8

10. Životopis

OSOBNİ PODATCI

Ime i prezime: Maja Lončarić

Datum i mjesto rođenja: 12. veljače 1984., Osijek

Adresa stanovanja: Prolaz Matice Hrvatske 2, Osijek

Telefon: 095 81 60 530

E-mail: mloncaric@mefos.hr

OBRAZOVANJE

1991. - 1998. - osnovnoškolsko obrazovanje

1998. - 2002. - Medicinska škola Osijek, smjer zdravstveno laboratorijski tehničar

2013. - 2016. - Medicinski fakultet Osijek, preddiplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijska dijagnostika

2016. - 2018. - Medicinski fakultet Osijek, diplomski sveučilišni studij medicinsko laboratorijska dijagnostika

ZAPOSLENJE

Klinički zavod za transfuzijsku medicinu (2005. - danas)

Klinički bolnički centar Osijek